UNIVERSITÉ DE GENÈVE

Département de morphologie,
histologie et embryologie.
Département de biologie animale,
anatomie et physiologie comparées

FACULTÉ DES SCIENCES

Professeur L. ORCI

Professeur H.J. HUGGEL

STRUCTURE DES MEMBRANES GLOMERULAIRES ET TUBULAIRES RENALES EN CRYODECAPAGE

THÈSE

présentée à la Faculté des sciences
de l'Université de Genève
pour obtenir le grade de docteur ès sciences biologiques

par
Fabienne Emilienne HUMBERT
de
GENEVE-VILLE (Genève)

Texte condensé de la thèse No 1769, approuvée par la Faculté des sciences. Des copies en microfilms du texte complet peuvent être obtenues auprès de la Bibliothèque publique et universitaire de Genève. Le texte complet peut être consulté à cette bibliothèque ou à la Bibliothèque nationale suisse à Berne.

Thèse No 1769

Genève
Service Rapide Offset S.A.
1976

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41545919_0069

UNIVERSITÉ DE GENÈVE

Département de morphologie,
histologie et embryologie.
Département de biologie animale,
anatomie et physiologie comparées

FACULTÉ DES SCIENCES

Professeur L. ORCI

Professeur H.J. HUGGEL

STRUCTURE DES MEMBRANES GLOMERULAIRES ET TUBULAIRES RENALES EN CRYODECAPAGE

THÈSE

présentée à la Faculté des sciences
de l'Université de Genève
pour obtenir le grade de docteur ès sciences biologiques

par
Fabienne Emilienne HUMBERT
de
GENEVE-VILLE (Genève)

Texte condensé de la thèse No 1769, approuvée par la Faculté des sciences. Des copies en microfilms du texte complet peuvent être obtenues auprès de la Bibliothèque publique et universitaire de Genève. Le texte complet peut être consulté à cette bibliothèque ou à la Bibliothèque nationale suisse à Berne.

Thèse No 1769

Genève
Service Rapide Offset S.A.
1976

La faculté des sciences, sur le préavis de Messieurs L. ORCI, professeur ordinaire et directeur de thèse (Faculté de Médecine), H. HUGGEL, professeur ordinaire et responsable devant la Faculté, A. PERRELET, professeur assistant (Faculté de Médecine) autorise l'impression de la présente thèse, sans exprimer d'opinion sur les propositions qui y sont énoncées.

Genève, le 21 septembre 1976

Le doyen :

Jean MULLER

Thèse No 1769



UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Je voudrais honorer ici la mémoire du Professeur Charles Rouiller qui m'a accueillie à l'Institut d'Histologie et d'Embryologie.

Je voue une profonde reconnaissance au Professeur Lelio Orci qui a été pour moi un guide à la fois enthousiaste et exigeant.

Mes remerciements vont au Professeur Hans-J. Huggel pour sa disponibilité, au Professeur Alain Perrelet qui m'a si souvent accordé son temps et prodigué ses conseils.

Je remercie Mlle Jacqueline Rial et M. Claude Pricam pour leur amicale collaboration.

J'aimerais également remercier Mme Marthe Sidler-Ansermet pour les documents photographiques, ainsi que Mlle Isabelle Bernard pour la dactylographie des manuscrits.

Ces recherches ont été subventionnées par le Fonds National Suisse de la Recherche Scientifique (crédits no 3.8080.72 et 3.553.75).

INTRODUCTION

Le néphron et le tube collecteur assument au niveau du rein des fonctions complexes et spécifiques, dont plusieurs sont définies avec précision par la physiologie. Un des éléments essentiels à ces fonctions étant la membrane plasmique des cellules épithéliales bordant les différentes parties du glomérule et des tubules rénaux, il est apparu qu'une connaissance détaillée de l'ultrastructure membranaire à ces divers niveaux pourrait contribuer à l'élucidation des causes de la spécificité fonctionnelle.

La caractérisation des membranes plasmiques des cellules formant le néphron et le tube collecteur a été entreprise par la technique du cryodécapage. Cette technique, qui consiste à produire une réplique métallique de l'intérieur des membranes cellulaires (9) fracturées sous congélation, permet de visualiser les domaines respectifs occupés par les deux constituants principaux des membranes biologiques : les phospholipides et les protéines. En cryodécapage, les phospholipides membranaires apparaissent comme des zones lisses, amorphes dans la réplique métallique, alors que les protéines sont représentées par des sous-unités aisément identifiables, appelées particules intramembranaires (8,62). Ainsi, chaque membrane peut-elle être caractérisée en cryodécapage par le nombre, la disposition, la forme et la taille de ses particules intramembranaires.

Le cryodécapage nous a d'autre part permis l'étude morphologique de spécialisations membranaires spécifiques qui interviennent dans la constitution des jonctions intercellulaires (37,45). Le travail présent est un résumé de différentes publications ayant trait à l'organisation morphologique des membranes rénales en cryodécapage; plusieurs espèces d'animaux, de même que plusieurs conditions expérimentales ont été étudiées, toutes n'étant pas forcément en rapport logique entre elles puisqu'ayant fait l'objet de publications séparées. Afin de faciliter la lecture d'un texte composé d'un ensemble d'éléments indépendants, les publications de l'auteur constituant la thèse dont le texte présent est le résumé, ont été identifiées par un numéro de renvoi à la liste bibliographique générale (voir page 24) en *italique*.

MATERIEL ET METHODES

PREPARATION ET FIXATION DES ANIMAUX

Les reins de Rats Wistar adultes, mâles et femelles, ayant libre accès à l'eau et à la nourriture, ont été fixés par immersion dans une solution de glutaraldehyde à 4 % dans un tampon phosphate ou cacodylate (0,1 M, pH 7,4) (58), ou par perfusion de l'animal entier avec le même fixateur à concentration plus faible (2 % de glutaraldehyde) (21). Quelques Rats ont également été perfusés avec une solution hyperosmolaire de glutaraldehyde 6 % dans un tampon cacodylate, afin d'obtenir une meilleure fixation de la médulla rénale *(31,32,52,53,54)*.

Des vessies de Crapauds (Bufo marinus) ont été excisées et montées dans des chambres de verre : le côté séreux de l'épithélium a été exposé à une solution de Ringer de composition standard (2) et le côté muqueux à la même solution diluée dix fois. Après une exposition de durée variable à cette solution, les vessies ont été rapidement retirées des chambres et fixées dans une solution de glutaraldehyde 2 % dans un tampon phosphate 0,1 M *(50)*.

Des Necturus (Necturus maculosus) mâles et femelles pesant entre 80 et 120 g., ont été anesthésiés (Tricaïne methanesulfate MS 222, Sandoz A.G., Bâle) et leur rein droit, préparé selon la méthode de Boulpaep (7). Un catheter a été introduit à travers la portion caudale de la veine abdominale ventrale afin de fixer le rein par perfusion : l'injection rétrograde de ce segment veineux a permis la perfusion des veines latérales des deux reins et la distribution homogène du perfusat dans le système porte des capillaires veineux. Cinq animaux ont été soumis à la diurèse saline telle qu'elle est décrite dans (7,24,25) alors que quatre autres animaux recevaient une perfusion de contrôle (7,24,25).
A la fin de l'expérience, les reins étaient fixés par perfusion d'une solution contenant 1 % de glutaraldehyde dans un tampon Na-cacodylate 0.05 M, pH 7,4, équilibré avec du chlorure de sodium à 210 mOsm, valeur se rapprochant de l'osmolarité du plasma du Necturus (5,*33*).

Des foetus humains (14 à 21 semaines de gestation) ont été obtenus par hysterotomie lors d'avortements légaux. Ces foetus ont été fixés par perfusion cardiaque d'une solution

contenant 1 % de paraformaldehyde, 1.25 % de glutaraldehyde et 0.02 % de trinitrocresol dans un tampon phosphate 0.1 M (pH 7.4) saturé avec du chlorure de calcium. Des foetus de Rats ont été obtenus par césarienne au 17ème jour ou 20ème jour de gestation. Les reins ont été rapidement prélevés afin d'être fixés par immersion dans une solution contenant 4 % de glutaraldehyde dans un tampon cacodylate 0.1 M (pH 7.4) *(34)*.

Des Rats Wistar adultes des deux sexes ont été rendus néphrotiques par administration journalière sous-cutanée d'aminonucleoside de puromycine à la dose de 1.5 mg par 100 gm de poids corporel. Les Rats contrôles ont été injectés avec une solution saline (0.9 % de NaCl). Après 4, 7, 10 et 14 jours de traitement, les animaux ont été sacrifiés. Leurs reins ont été fixés soit par immersion dans une solution de 4 % de glutaraldehyde dans un tampon phosphate 0.1 M, soit par perfusion de l'animal entier avec une solution de 2 % de glutaraldehyde dans un tampon cacodylate *(54)*.

MICROSCOPIE ELECTRONIQUE CONVENTIONNELLE

Après fixation, les fragments de rein destinés à être examinés en microscopie électronique conventionnelle ont été postfixés dans l'acide osmique 2 % dans un tampon phosphate (46), déshydratés dans des concentrations croissantes d'alcool puis enrobés dans l'Epon (41) *(31,32,33,34,50,52,53,54)*.

CRYODECAPAGE

Les échantillons de rein destinés à être cryodécapés ont été immergés dans une solution de glycérol à 30 % dans un tampon phosphate 0.1 M pendant 2 heures au minimum. Les fragments ont été ensuite rapidement congelés dans du Freon 22 refroidi avec de l'azote liquide, puis cryodécapés dans une unité Balzers 301 selon le procédé de MOOR et coll. (48). Les répliques de platine-carbone ont été nettoyées dans de l'hypochlorite de sodium puis rincées avec de l'eau distillée *(31,32,33,34,50,52,53,54)*.

Les répliques ainsi que les coupes fines ont été ensuite examinées dans un microscope électronique Philips EM 300. Pour identifier les différentes structures rénales sur les répliques de cryodécapage, nous avons utilisé les critères établis en microscopie électronique conventionnelle *(31,32,33,34,50,52,53,54)*.

CALCULS STATISTIQUES

Afin d'exprimer le nombre et la taille des particules présentes dans certaines membranes *(32,50)*, nous avons calculé la moyenne et l'erreur standard de la moyenne (SEM). Pour la comparaison des différents groupes de mesure, le test de "t" de Student a été appliqué et deux moyennes ont été considérées comme significativement différentes, si la probabilité "p" était plus petite que 0.01.

MORPHOMETRIE

Dans le but de quantifier le développement des jonctions serrées dans le rein de Necturus *(33)* et le pourcentage d'espaces intercellulaires fermés dans des reins de rats néphrotiques *(54)*, nous avons appliqué les méthodes morphométriques établies par Weibel (65,66).

RESULTATS ET DISCUSSION

(31)

Dans le tube collecteur, on note la présence de cellules "claires" et "foncées" aisément reconnaissables en microscopie optique et électronique (49,56,67). On identifie les cellules "foncées" grâce à leur cytoplasme riche en organelles, notamment en mitochondries, et par leurs microvillosités qui sont bien développées au pôle luminal. Par opposition, les cellules "claires" possèdent peu d'inclusions cytoplasmiques et des microvillosités très rudimentaires.

En cryodécapage, on observe des arrangements rectangulaires de particules intramembranaires dans les membranes plasmiques des cellules "claires". Ces arrangements de particules sont présents sur la face A (correspondant au feuillet cytoplasmique) de la membrane plasmique et dispersés parmi des particules globulaires habituelles. On peut estimer la taille des particules formant les arrangements rectangulaires

à 70 Å environ (particules globulaires = 160 Å). Les arrangements de particules ne sont présents qu'au niveau des membranes latérales et basales des cellules "claires".

La face A des membranes plasmiques des cellules "foncées" possède deux populations de particules intramembranaires : des particules globulaires mesurant 160 Å environ de diamètre et des particules de forme allongée d'une taille d'environ 290 Å X 160 Å. La face B des cellules "foncées" ne contient que des particules globulaires. On note la présence de particules allongées non seulement sur les faces latérales, basales et luminales, mais également dans les membranes limitantes de certaines vésicules intracytoplasmiques.

La présence de particules intramembranaires de formes inhabituelles est intéressante pour deux raisons : premièrement ces particules pourraient représenter un critère supplémentaire permettant de distinguer les cellules "claires" des cellules "foncées" dans des répliques de cryodécapage; deuxièmement, le fait que ces deux types cellulaires soient pourvus respectivement d'une spécialisation membranaire différente est en faveur de l'hypothèse selon laquelle ces cellules pourraient avoir des fonctions différentes au niveau du tube collecteur (49,56,67). En effet, les arrangements de particules décrits dans la membrane des cellules "claires" ont été observés également dans la membrane plasmique de cellules intestinales (61) et d'astrocytes (14,39), où on leur a attribué un rôle dans la perméabilité membranaire. On pourrait attribuer le même rôle aux arrangements de particules des cellules claires du tube collecteur, au niveau duquel on sait qu'il existe un important mouvement d'eau (29).

Quant aux particules allongées, dont la signification est encore inconnue, on ne sait pas à l'heure actuelle si elles sont le résultat de la fusion de deux ou plusieurs particules globulaires. Leur présence dans le tube collecteur est limitée aux cellules "foncées", mais on observe de telles particules allongées dans les cellules dites "riches en mitochondries" de la vessie de Crapaud *(voir 50)*.

(50)

On reconnaît quatre types cellulaires dans l'épithélium de la vessie de Crapaud (11,16) : la cellule granulaire (la plus fréquente puisqu'elle représente 85 % de la population cellulaire), la cellule riche en mitochondries, la cellule à mucus et la cellule basale. Lorsqu'en cryodécapage le plan de fracture met à jour les membranes plasmiques de ces diverses cellules, on observe que le pôle luminal des cellules granulaires ainsi que celui des cellules riches en mitochondries possèdent une organisation membranaire particulière. Fait inhabituel, la face A luminale de la cellule granulaire contient moins de particules (800 $\pm$ 20/μm^2) que la face B luminale (1500 $\pm$ 90/μm^2). La taille des particules diffère également : le diamètre moyen de 100 $\pm$ 20 Å sur la face A et de 160 $\pm$ 40 Å sur la face B. Par contre, au-dessous de la jonction serrée la membrane plasmique retrouve une organisation typique : 1700 $\pm$ 100 particules/μm^2 sur la face A et de 300 $\pm$ 30/μm^2 sur la face B, avec un diamètre constant de 120 $\pm$ 60 Å pour les particules des deux faces de fracture.

Dans le cas des membranes luminales, latérales et basales de la cellule riche en mitochondries, les faces B ne contiennent que des particules globulaires, contrairement aux faces A qui

montrent des particules allongées mesurant environ 160 X 290 Å et dispersées parmi les particules globulaires *(cf. 31)*.

Comme dans le tube collecteur, il est difficile d'attribuer aux différenciations membranaires observées dans la vessie un rôle définitif dans les divers phénomènes de transport. En particulier il persiste un doute quant aux sites d'action d'hormones telles que la vasopressine et l'aldostérone. Certaines expériences contradictoires rapportent tantôt que la cible de ces hormones se trouve au niveau des cellules granulaires, tantôt au niveau des cellules "riches en mitochondries" (12,16,42,59). En revanche, il est en général accepté que la membrane apicale est l'endroit où a lieu le changement de la perméabilité à l'eau et au sodium, en particulier dans le cas d'un effet de la vasopressine (16,44,60), et c'est précisément à ce niveau qu'on trouve en cryodécapage une structure inhabituelle de la membrane plasmique de la cellule granulaire.

(32)

En coupe fine, la partie descendante de l'anse mince de Henle possède un épithélium dont les cellules aplaties forment de petites projections luminales, latérales et basales. Par contre, les cellules constituant l'épithélium de la branche ascendante ne montrent que de très rares projections (51).

L'étude en cryodécapage de la membrane plasmique de ces cellules tubulaires révèle la présence de particules intramembranaires ainsi que celle de fibrilles (faces A) ou de sillons (faces B) qui représentent une jonction intercellulaire de type serré *(voir 52)*.

Dans les parties descendante et ascendante, on observe une ou deux, exceptionnellement trois fibrilles : contrairement aux autres segments tubulaires, ces éléments sont épais et continus *(52)*. Par contre le nombre des particules intramembranaires diffère considérablement entre la partie descendante et ascendante :

NOMBRE DE PARTICULES INTRAMEMBRANAIRES (± SEM) DANS LES CELLULES EPITHELIALES DE LA PARTIE MINCE DE L'ANSE DE HENLE

Région membranaire	Nombre de particules/μm^2 Partie descendante	Partie ascendante
Luminale (face A)	4009 ± 55	1006 ± 44
Luminale (face B)	765 ± 88	44 ± 5
Latérale (face A)	3921 ± 72	1542 ± 48
Latérale (face B)	581 ± 30	87 ± 11

Il est séduisant de faire un parallèle entre l'asymétrie morphologique que l'on observe au niveau de l'anse mince de Henle et l'asymétrie fonctionnelle que l'on attribue à ce segment, la branche descendante étant plus perméable à l'eau que la branche ascendante (15,36).

La perméabilité à travers un épithélium (comme celui qui borde les tubes rénaux) peut être le résultat d'une diffusion soit paracellulaire, soit transcellulaire, ou encore les deux à la fois. On sait actuellement que la diffusion paracellulaire est contrôlée par la présence de jonctions serrées entre les cellules adjacentes (13,45,*52*), alors que la diffusion transcellulaire serait contrôlée par la membrane plasmique des cellules épithéliales (6, *voir 50*).

Dans le cas de l'anse de Henle, il ne semble pas que la jonction serrée soit responsable de la différence de perméabilité notée en physiologie puisque cette jonction est développée également dans la branche ascendante et dans la branche descendante (10). Par contre, si la diffusion se fait par voie transcellulaire, on peut trouver une corrélation avec les observations morphologiques : en effet puisque les particules représentent les protéines de la membrane (9), on peut considérer une membrane riche en protéines, telle la membrane plasmique de la branche descendante, comme particulièrement perméable à l'eau, ce qui correspond exactement aux données de la physiologie.

(52)

Il a été établi que sur les répliques de cryodécapage, les jonctions serrées apparaissent comme un réseau de crêtes ou fibrilles (sur la face A) et un réseau complémentaire de sillons (sur la face B) (22,37). En microscopie électronique conventionnelle (coupe fine) la jonction serrée consiste en une fusion des feuillets externes des membranes plasmiques de deux cellules adjacentes, fusion qui oblitère l'espace intercellulaire.

Entre les cellules épithéliales du tube proximal, les éléments jonctionnels (fibrilles et sillons) indiquant la présence de jonctions serrées sont généralement peu nombreux. Dans la plupart des cas, on n'observe qu'une ou deux fibrilles (ou sillons) et chacune d'entre elles montre de nombreuses discontinuités. Dans quelques cas rares, on trouve trois à cinq éléments jonctionnels. Ces éléments sont en général parallèles et le plus souvent non ramifiés. De plus, la membrane latérale

du tube proximal possède plusieurs régions membranaires où les particules intramembranaires sont agrégées, révèlant la présence d'une jonction intercellulaire de type nexus (22,37).

Dans la partie mince de l'anse de Henle, la jonction serrée est constituée d'un (rarement deux) élément(s). Cependant, ces fibrilles diffèrent de celles observées dans le tube proximal car elles sont en général continues et semblent plus épaisses.

Dans le tube distal, les éléments jonctionnels sont plus nombreux que dans le tube proximal ou le segment mince de l'anse de Henle. Les éléments sont en général parallèles et peu espacés de telle sorte que la hauteur apico-basale de la jonction serrée est relativement faible. Comme dans le tube proximal, les fibrilles sont peu ramifiées et on peut trouver des variations locales dans le nombre et la disposition de ces éléments.

Dans le tube collecteur, les éléments jonctionnels sont nombreux. Contrairement au tube proximal et distal, ces éléments sont ramifiés et forment un réseau complexe atteignant environ trois fois la hauteur de la jonction serrée du tube distal. Jusqu'à maintenant, on n'a pas observé la présence de nexus dans les tubes distaux, les anses de Henle ou les tubes collecteurs.

Ces observations montrent qu'il existe un développement variable des jonctions serrées au niveau des différents segments tubulaires du rein, facilement détectable en cryodécapage. Dans une étude analogue récente qui compare les épithéliums "imperméables" et les épithéliums "perméables",

Claude et Goodenough (13) ont montré que les épithéliums "perméables" ne possèdent que peu d'éléments jonctionnels, alors que les épithéliums "imperméables" en possèdent un grand nombre. Ceci semble être également valable pour chaque segment des tubules rénaux puisque les valeurs de résistance électrique transépithéliale (mesure indirecte de la perméabilité) sont proportionnelles au nombre d'éléments jonctionnels présents entre les cellules épithéliales (voir Tableau, page 14).
L'hypothèse supposant une relation entre perméabilité transépithéliale et développement des jonctions serrées a été testée expérimentalement *(voir 33)*.

COMPARAISON DU DEVELOPPEMENT DES JONCTIONS SERREES ET DES VALEURS DE RESISTANCE ELECTRIQUE TRANSEPITHELIALE AUX DIVERS NIVEAUX DES TUBULES DU REIN DE RAT

Tubule	Résistance électrique transépithéliale (ohms x cm^2)	Nombre d'éléments jonctionnels			Hauteur (Å) apico-basale de la jonction		
		Max.	Min.	Le plus fréquent	Max.	Min.	Le plus fréquent
Proximal	5-7 (22)	6	0	1-2	1500	0	0-100
Henle		3	1	1	300	100	150
Distal	350 (43)	11	2	5-6	2100	300	900
Collecteur	867[a] (28)	14	6	8-9	4000	1400	3000

[a]Valeur pour le tube collecteur du Lapin.

(33)

Le développement des jonctions serrées entre les cellules épithéliales du tube proximal du rein de Necturus a été mesuré au cours de la diurèse saline.

Par morphométrie, on a pu montrer qu'après 2 heures d'infusion saline isotonique, la densité de longueur des éléments jonctionnels par unité de surface membranaire diminue significativement par rapport aux valeurs trouvées chez les Necturus contrôles (voir Tableau ci-dessous).

DENSITE DE LONGUEUR DES ELEMENTS JONCTIONNELS PAR UNITE DE SURFACE MEMBRANAIRE

Animal No	Contrôle Moyenne par animal ± SEM	Animal No	Diurèse saline Moyenne par animal ± SEM
1	4.94 ± 0.65	5	2.94 ± 0.51
2	4.78 ± 0.39	6	2.79 ± 0.46
3	3.80 ± 0.25	7	2.98 ± 0.21
4	4.96 ± 0.37	8	2.93 ± 0.30
		9	3.45 ± 0.79
Moyenne pour les animaux contrôles	4.62 ± 0.27	Moyenne pour les animaux en diurèse saline	3.01 ± 0.11
	$p < 0.005$		

Les résultats obtenus mettent ainsi en évidence une diminution de la complexité des jonctions serrées en réponse à une surcharge saline. Cet évènement intervient dans une condition où Boulpaep (7) a mesuré une augmentation de la conductance électrique (perméabilité) paracellulaire et une rétrodiffusion du sodium de l'espace péritubulaire dans la lumière du tube proximal.

Les images de cryodécapage montrent que les changements observés dans les jonctions serrées consistent en discontinuités plus ou moins étendues dans les éléments jonctionnels. Etant donné qu'il existe également des discontinuités chez les animaux contrôles, bien qu'en faible nombre, il est tentant de considérer le remaniement produit par la diurèse saline comme une augmentation de la "perméabilité normale" de ces jonctions serrées.

Le mécanisme par lequel une jonction serrée pourrait moduler la diffusion des solutés dans l'espace paracellulaire, pourrait trouver une explication dans le modèle structural des jonctions serrées conçu par Wade et Karnovsky (64). Dans ce modèle, les membranes plasmiques adjacentes sont réunies par un élément structural, la fibrille, qui traverse toute l'épaisseur des deux membranes et obstrue l'espace intercellulaire, constituant ainsi une barrière de diffusion; la diffusion ne serait possible qu'aux endroits de la jonction où les fibrilles sont discontinues. Ainsi les modifications de cette barrière de diffusion pourraient conditionner un changement de perméabilité paracellulaire.

(53)

En coupe fine, on reconnaît les cellules mésangiales par leur localisation spécifique entre la membrane basale et l'endothélium fenestré du capillaire glomérulaire, alors que les cellules du lacis sont situées près de la macula densa, en continuité avec le mésangium.

En cryodécapage, on peut voir que la membrane plasmique des cellules mésangiales contient des agrégats de particules intramembranaires caractérisant la présence de jonctions intercellulaires de type nexus. Ces nexus sont le plus souvent circulaires et de plus, ils peuvent être associés avec de courtes fibrilles du type jonction serrée *(cf. 52)*. Les cellules du lacis possèdent également de nombreux nexus.
En outre, le matériel examiné en microscopie électronique conventionnelle révèle fréquemment la présence de nexus entre les prolongements d'une même cellule.

Les nexus présents dans les cellules mésangiales et les cellules du lacis ont une apparence semblable à celle qui a été décrite dans un grand nombre d'épithéliums (22,37,61). Cependant, par opposition aux autres tissus dans lesquels les nexus sont des jonctions intercellulaires mettant en communication deux cellules distinctes (45), la plupart des nexus que l'on observe dans les cellules mésangiales et les cellules du lacis apparaissent entre les prolongements d'une même cellule. Bien qu'inexpliquée, cette particularité pourrait résulter d'une parenté des cellules mésangiales et du lacis avec les cellules musculaires lisses vasculaires où la présence de nexus entre les prolongements d'une même cellule est connue (35). En effet, plusieurs auteurs ont avancé l'hypothèse que les cellules mésangiales et les cellules du lacis pourraient

être des cellules musculaires lisses modifiées (3,17,30,40, 68) qui pourraient assumer une fonction contractile au niveau du glomérule (3,17,68). Les nexus pourraient ainsi représenter le lieu de couplage électrique (45) entre les cellules mésangiales et celles du lacis, couplage qui leur permettrait de fonctionner comme un syncytium fonctionnel. Bien que nous ne sachions pas pour le moment si les cellules mésangiales communiquent par des nexus avec les cellules du lacis, ni même si ces dernières sont couplées avec les cellules musculaires lisses des artérioles glomérulaires, il est tentant d'imaginer que tous ces types cellulaires pourraient participer synergiquement à une fonction contractile destinée à régler le flux sanguin dans le glomérule.

(34)

Au cours du développement du rein, les cellules de l'épithélium glomérulaire subissent des changements de forme afin de devenir les podocytes définitifs (1) : les cellules sont d'abord de forme columnaire puis s'aplatissent progressivement et se différencient finalement en cellules possédant des prolongements cytoplasmiques allongés (pédicelles).

En cryodécapage, on découvre la présence de spécialisations jonctionnelles entre les cellules de l'épithélium glomérulaire. Ces jonctions sont observées de préférence au niveau des membranes latérales lorsque les cellules sont columnaires, entre le corps cellulaire et les pédicelles lorsque les cellules cubiques sont en train de former ces derniers, puis entre les pédicelles lorsque ceux-ci sont différenciés.

Le trait caractéristique des jonctions entre podocytes en développement est qu'elles sont constituées sur la face A d'agrégats linéaires de particules intramembranaires; les fibrilles habituelles des jonctions serrées sont rares. En revanche, sur les faces B, on reconnaît des sillons linéaires caractéristiques (45).

Les différents segments des tubules en développement sont difficiles à identifier sur des répliques de cryodécapage. Le critère le plus facilement identifiable, lorsqu'il est présent, est la bordure en brosse du tube proximal. Dans ce segment, on observe généralement peu d'éléments (fibrilles ou sillons) jonctionnels (un ou deux) qui peuvent être continus ou discontinus. En plus des jonctions serrées, on peut voir sur les membranes plasmiques latérales du tube proximal la présence de nexus *(cf. 52).* Dans les autres segments tubulaires du rein foetal (sans bordure en brosse), les jonctions serrées sont composées d'éléments jonctionnels parallèles et peu espacés comme dans le tube distal du rein adulte *(52)* ou extrêmement ramifiés de façon à former des réseaux ressemblant à ceux observés dans le tube collecteur adulte *(52)*.

On observe également des jonctions serrées d'aspect inhabituel dans certaines structures épithéliales non identifiées représentant probablement des vésicules rénales ou des corps en S. Ces jonctions se présentent de la manière suivante : sur la face A, les particules sont alignées et forment des segments de chaînettes séparés par de larges intervalles dépourvus de

particules. De plus, dans ces jonctions, les particules sont souvent disposées sur le sommet d'élévations de la face A. Dans les régions correspondantes de la face B, on observe des sillons contenant un nombre inhabituellement élevé de particules. Dans quelques cas rares, on observe de petits agrégats de particules associés aux regroupements linéaires des faces A.

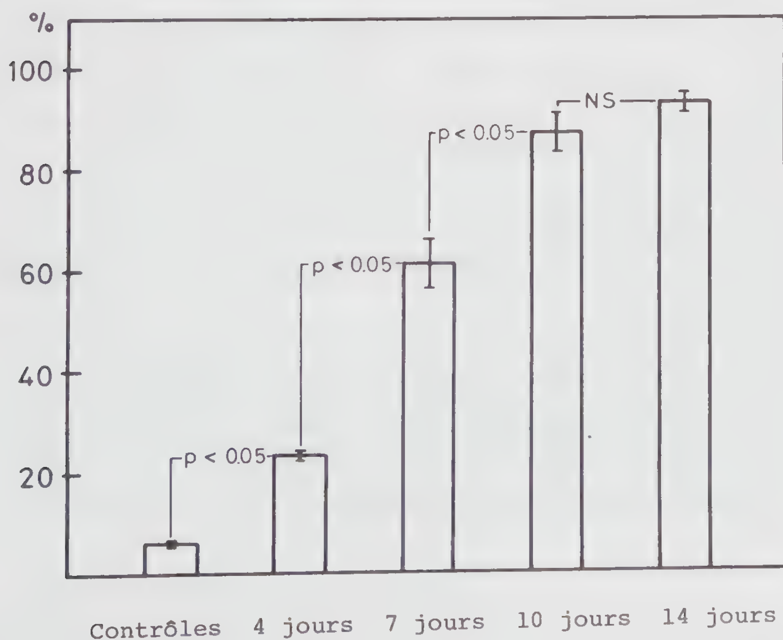
Ainsi, les répliques de cryodécapage de rein foetal chez l'Homme et le Rat montrent que les cellules épithéliales des néphrons en développement possèdent des spécialisations jonctionnelles identifiables respectivement comme des jonctions serrées et des nexus.
La morphologie des jonctions serrées est très variable : certaines jonctions ont un aspect similaire à celui que l'on observe dans les tubes rénaux adultes, alors que d'autres n'ont pas d'équivalent dans le rein adulte normal. Parmi ces dernières on peut noter les jonctions qui se trouvent entre les podocytes en développement.
La présence de jonctions transitoires entre les podocytes en développement a été rapportée en microscopie électronique conventionnelle par Aoki (1) qui les interprète comme des jonctions intermédiaires (45).
Il est à noter que les jonctions atypiques décelées en cryodécapage, dans le glomérule foetal, peuvent apparaître dans les glomérules de rein adulte néphrotique (voir 54,57).
En revanche, la présence de nexus entre les cellules du tube proximal foetal correspond à ce qui a été décrit dans le tube proximal adulte (38,52) et suggère l'existence d'un couplage (6) entre les cellules du tube proximal déjà pendant la vie foetale.

(54)

Les modifications que subit le glomérule rénal pendant la néphrose ont été soigneusement étudiées en coupe fine dans le passé (19,20,26,63). Après l'administration de puromycine pendant quatre jours, un changement s'opère dans l'arrangement régulier des pédicelles : ceux-ci se tuméfient et forment des zones de contacts les uns avec les autres, ce qui est exceptionnel dans le glomérule normal. Dans les stades ultérieurs de la néphrose, les pédicelles disparaissent complètement et la membrane basale est recouverte d'un feuillet épithélial continu formé par les podocytes tuméfiés.

Lorsque les glomérules sont cryodécapés et que le plan de fracture permet l'examen des pédicelles de face, on observe une disparition progressive des espaces extracellulaires (interpédicellaires) qui existent normalement entre ces pédicelles. Cette disparition a été évaluée quantitativement (Tableau).

POURCENTAGE D'ESPACES INTERCELLULAIRES (INTERPEDICELLAIRES) OBLITERES DANS LES GLOMERULES A DIFFERENTS STADES DE LA NEPHROSE



La disparition des espaces interpédicellaires s'accompagne de la formation de zones de contact extensives entre les podocytes tuméfiés. En cryodécapage, ces zones de contact correspondent sur la face de fracture A des membranes plasmiques à des alignements de particules intramembranaires et beaucoup plus rarement à de courtes fibrilles continues. Ces alignements de particules peuvent être ramifiés de façon à former des réseaux; dans ce cas, on trouve aux points d'intersections des agrégats de particules. Sur les faces B, il existe des sillons linéaires sur lesquels de nombreuses particules adhèrent. Dans les cas extrêmement rares où l'on peut trouver une zone de contact entre les pédicelles des podocytes de reins contrôles, les faces de fracture présentent les mêmes caractéristiques.

Du fait de l'existence de ces sillons sur la face B, on interprète les alignements de particules sur la face A comme des jonctions serrées atypiques plutôt que comme des nexus linéaires *(cf. 34)*. En effet, une face B de nexus linéaire devrait contenir un alignement de dépressions complémentaires aux particules alignées de la face A (4,55).
Ainsi, la présence de particules alignées sur les faces A peut avoir deux explications : i) il s'agit d'authentiques jonctions serrées en formation et les particules alignées vont régulièrement fusionner pour former les fibrilles que l'on voit habituellement dans une jonction serrée typique (22,23, 47); ii) elles représentent ce qui subsiste des fibrilles continues après l'arrachement d'une partie des sous-unités (particules).
Le fait que les sillons des faces B contiennent un nombre anormalement élevé de particules semble être en faveur de cette dernière hypothèse. Dans ce cas, les jonctions correspondraient fonctionnellement et morphologiquement à des jonctions serrées de type "perméable" (13,23). La question

qui reste sans réponse est de savoir pourquoi ces jonctions restent incomplètes (absence de fibrilles continues); on ne peut pas exclure la possibilité que les podocytes, contrairement à d'autres cellules (22) ne possèdent que des capacités restreintes dans l'assemblage de ce type de jonction *(cf. 34)*.

CONCLUSION

L'ensemble des résultats résumé dans ce travail met en évidence une grande variété dans l'organisation ultrastructurale des membranes plasmiques du néphron et du tube collecteur. La détection d'une telle spécificité structurale, qui reflète parfaitement la spécificité fonctionnelle propre à chaque segment et à chaque type cellulaire, devrait ouvrir la voie à une confrontation fructueuse entre la morphologie et la physiologie et permettre une meilleure compréhension du fonctionnement rénal.

BIBLIOGRAPHIE

1. AOKI, A. : Temporary cell junctions in the developing human renal glomerulus. Dev. Biol. 15, 156-164 (1967).

2. BASTIDE, F. et S. JARD : Actions de la noradrenaline et de l'ocytocine sur le transport actif de sodium et la perméabilité à l'eau de la peau de grenouille. Rôle du 3'-5'-AMP cyclique. Biochim. Biophys. Acta 150, 113-123 (1968).

3. BECKER, C.G. : Demonstration of actomyosin in mesangial cells of the renal glomerulus. Am. J. Pathol. 66, 97-108 (1972).

4. BENEDETTI, E.L., DUNIA, I. and H. BLOEMENDAL : Development of junctions during differentiation of lens fibers. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 71, 5073-5077 (1974).

5. BENTZEL, C.J. : Expanding drop analysis of Na and H_2O flux across Necturus proximal tubule. Am. J. Physiol. 226, 118-126 (1974).

6. BOULPAEP, E.L. : Electrophysiological properties of the proximal tubule : importance of cellular and intercellular transport pathways. In : Electrophysiology of epithelial cells, edited by Giebisch G. pp. 91-112, Stuttgart Schattauer-Verlag (1971).

7. BOULPAEP, E.L. : Permeability changes of the proximal tubule of Necturus during saline loading. Am. J. Physiol. 222, 517-531 (1972).

8. BRANTON, D. : Membrane structure. Ann.Rev. Plant. Physiol. 20, 209-238 (1969).

9. BRANTON, D. : Freeze-etching studies of membrane structure. Phil. Trans. Roy. Soc. Lond. B 261, 133-138 (1971).

10. BULGER, R.E. : Ultrastructure of the junctional complexes from the descending thin limb of the loop of Henle from rats. Anat. Rec. 171, 471-476 (1971).

11. CHOI, J.K. : The fine structure of the urinary bladder of the toad Bufo marinus. J. Cell Biol. 16, 53-72 (1963).

12. CIVAN, M.M. and H.S. FRAZIER : The site of the stimulatory action of vasopressin on sodium transport in toad bladder. J. gen. Physiol. 51, 589-605 (1968).

13. CLAUDE, P. and D.A. GOODENOUGH : Fracture faces of zonulae occludentes from "tight" and "leaky" epithelia. J. Cell Biol. 58, 390-400 (1973).

14. DERMIETZEL, R. : Visualization by freeze-fracturing of regular structures in glial cell membrane. Naturwissenschaften 60, 208-209 (1973).

15. DE ROUFFIGNAC, C. : Physiological role of the loop of Henle in urinary concentration. Kidney Int. 2, 297-303 (1972).

16. DI BONA, D.R., CIVAN, M.M. and A. LEAF : The cellular specificity of the effect of vasopressin on toad urinary bladder. J. Membrane Biol. 1, 79-91 (1969).

17. DUNIHUE, F.W. and W.G. BOLDOSSER : Observations on the similarity of mesangial to juxtaglomerular cells. Lab. Invest. 12, 1228-1240 (1963).

18. FARQUHAR, M.G. and G.E. PALADE : Segregation of ferritin in glomerular protein absorption droplets. J. Biophysic. and Biochem. Cytol. 7, 297-303 (1960).

19. FARQUHAR, M., VERNIER, R.L. and R.A. GOOD : An electron microscope study of the glomerulus in nephrosis, glomerulonephritis and lupus erythematosus. J. Exp. Med. 106, 649-660 (1957).

20. FARQUHAR, M., VERNIER R.L. and R.A. GOOD : Studies on familial nephrosis. II. Glomerular changes observed with the electron microscope. Am. J. Pathol. 33, 791-817 (1957).

21. FORSSMANN, W.G., SIEGRIST, G., ORCI, L., GIRARDIER, L., PICTET, R. et C. ROUILLER : Fixation par perfusion pour la microscopie électronique. Essai de généralisation. J. de Microscopie 6, 279-304 (1967).

22. FRIEND, D.S. and N.B. GILULA : Variations in tight and gap junctions in mammalian tissues. J. Cell Biol. 53, 758-776 (1972).

23. GILULA, N.B. : Development of cell junctions. Am. Zool. 13, 1109-1117 (1973).

24. GRANDCHAMP, A. and E.L. BOULPAEP : Effect of intraluminal pressure on proximal tubular sodium reabsorption. A shrinking drop micropuncture study. Yale J. Biol. Med. 45, 275-288 (1972).

25. GRANDCHAMP, A. and E.L. BOULPAEP : Pressure control of sodium reabsorption and intercellular backflux across proximal kidney tubule. J. Clin. Invest. 54, 69-82 (1974).

26. HARKIN, J.C., and L. RECANT : Pathogenesis of experimental nephrosis. Electron microscopic observations. Am. J. Pathol. 36, 303-329 (1960).

27. HEGEL, U., FRÖMTER, E., und T. WICK : Der elektrische Wandwiderstand des proximalen Konvolutes der Rattenniere. Pflügers Arch. Ges. Physiol. 294, 274-290 (1967).

28. HELMAN, S.I., GRANTHAM, J.J. and M.B. BURG : Effect of vasopressin on electrical resistance of renal cortical collecting tubules. Am. J. Physiol. 220, 1825-1832 (1971).

29. HILGER, H.H., KLÜMPER, J.D. und K.J. ULLRICH : Wasserrückresorption und Ionentransport durch die Sammelrohrzellen der Säugetierniere (mikroanalytische Untersuchungen). Pflügers Arch. Ges. Physiol. 267, 218-237 (1958).

30. HÜHN, D., STEINER, J.W. und H.Z. MOVAT : Die Feinstruktur des Mesangiums im Nierenglomerulum von Hund und Maus. Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat. 56, 213-230 (1962).

31. HUMBERT, F., PRICAM, C., PERRELET, A. and L. ORCI : Specific membrane differentiations in the cells of the kidney collecting tubule. J. Ultrastruct. Res. 52, 13-20 (1975).

32. HUMBERT, F., PRICAM, C., PERRELET, A. and L. ORCI : Freeze-fracture differences between plasma membranes of descending and ascending branches of the rat Henle's thin loop. Lab. Invest. 33, 407-411 (1975).

33. HUMBERT, F., GRANDCHAMP, A., PRICAM, C., PERRELET, A. and L. ORCI : Morphological changes in tight junctions of Necturus maculosus proximal tubules undergoing saline diuresis. J. Cell Biol. 69, 90-96 (1976).

34. HUMBERT, F., MONTESANO R., PERRELET A. and L. ORCI : Junctions in developing human and rat kidney : a freeze-fracture study. J. Ultrastr. Res. 56, 202-214 (1976).

35. IWAYAMA, T. : Nexuses between areas of the surface membrane of the same arterial smooth muscle cell. J. Cell Biol. 49, 521-525 (1971).

36. KOKKO, J.P. : Membrane characteristics governing salt and water transport in the loop of Henle. Fed. Proc. 33, 25-30 (1974).

37. KREUTZIGER, G.O. : Freeze-etching of intercellular junctions of mouse liver. In : Proceedings of the 26th Meeting of EMSA, pp.234-235. Claitor's Publishing Division, Baton Rouge (1968).

38. KÜHN, K. and E. REALE : Junctional complexes of the tubular cells in the human kidney as revealed with freeze-fracture. Cell Tiss. Res. 160, 193-205 (1975).

39. LANDIS, D.M.D. and T.S. REESE : Arrays of particles in freeze-fractured astrocytic membranes. J. Cell Biol. 60, 316-320 (1974).

40. LATTA, H. and A.B. MAUNSBACH : Relations of the centrolobular region of the glomerulus to the juxtaglomerular apparatus. J. Ultrastr. Res. 6, 562-578 (1962).

41. LUFT, J.H. : Improvements in epoxy resin embedding methods. J. Biophys. Biochem. Cytol. 9, 409-414 (1961).

42. MACKNIGHT, A.D.C., LEAF, A. and M.M. CIVAN : Vasopressin : evidence for the cellular site of the induced permeability change. Biochim. biophys. Acta 222, 560-563 (1970).

43. MALNIC, G. and G. GIEBISCH : Some electrical properties of distal tubular epithelium in the rat. Am. J. Physiol. 223, 797-808 (1972).

44. MASUR, S.K., HOLTZMAN, E. and R. WALTER : Hormone-stimulated exocytosis in the toad urinary bladder. J. Cell Biol. 52, 211-219 (1972).

45. McNUTT, N.S. and R.S. WEINSTEIN : Membrane ultrastructure at mammalian intercellular junctions. Progress in Biophysics and Molecular Biology 26, 47-101 (1973).

46. MILLONIG, G. : Advantages of a phosphate buffer for O_sO_4 solutions in fixation. J. Appl. Physics 32, 1637-1640 (1961).

47. MONTESANO, R., FRIEND, D.S., PERRELET, A. and L. ORCI : In vivo assembly of tight junctions in fetal rat liver. J. Cell Biol. 67, 310-319 (1975).

48. MOOR, H., MÜHLETHALER, K., WALDNER, H. and A. FREY-WYSSLING : A new freezing ultramicrotome. J. Biophys. Biochem. Cytol. 10, 1-13 (1961).

49. MYERS, C.E., BULGER, R.E., TISHER, C.C. and B.F. TRUMP : Human renal ultrastructure. IV. Collecting duct of healthy individuals. Lab. Invest. 15, 1921-1950 (1966).

50. ORCI, L., HUMBERT F., AMHERDT, M., GROSSO, A., DE SOUSA, R. and A. PERRELET : Patterns of membrane organization in toad bladder epithelium : a freeze-fracture study. Experientia 31, 1335-1338 (1975).

51. OSVALDO, L. and H. LATTA : The thin limbs of the loop of Henle. J. Ultrastr. Res. 15, 144-168 (1966).

52. PRICAM, C., HUMBERT, F., PERRELET, A. and L. ORCI : A freeze-etch study of the tight junctions of the rat kidney tubules. Lab. Invest. 30, 286-291 (1974).

53. PRICAM, C., HUMBERT, F., PERRELET, A. and L. ORCI : Gap junctions in mesangial and lacis cells. J. Cell Biol. 63, 349-354 (1974).

54. PRICAM, C., HUMBERT, F., PERRELET, A., AMHERDT, M. and L. ORCI : Intercellular junctions in podocytes of the nephrotic glomerulus as seen with freeze-fracture. Lab. Invest. 33, 209-218 (1975).

55. RAVIOLA, A. and N.B. GILULA : Gap junctions between photoreceptor cells in the vertebrate retina. Proc. Nat. Acad. Sci. USA 70, 1677-1681 (1973).

56. RHODIN, J. : Anatomy of kidney tubules. Int. Rev. Cytol. 7, 485-534 (1958).

57. RYAN, G.B., LEVENTHAL, M. and M.J. KARNOVSKY : A freeze-fracture study of the junctions between glomerular epithelial cells in aminonucleoside nephrosis. Lab. Invest. 32, 397-403 (1975).

58. SABATINI, D.D., BENSCH, K. and R.J. BARRNETT : Cytochemistry and electron microscopy. The preservation of cellular ultrastructure and enzymatic activity by aldehyde fixation. J. Cell Biol. 17, 19-58 (1963).

59. SCOTT, W.N. and V.S. SAPIRSTEIN : Partition of tissue functions in epithelia : localization of enzymes in "mitochondria rich" cells in toad urinary bladder. Science 184, 797-800 (1974).

60. SPINELLI, F., GROSSO, A. and R.C. DE SOUSA : The hydrosmotic effect of vasopressin : a scanning electron-microscope study. J. Membrane Biol. 23, 139-156 (1975).

61. STAEHELIN, L.A. : Three types of gap junctions interconnecting intestinal epithelial cells visualized by freeze-etching. Proc. Nat. Acad. Sci. USA 69, 1318-1321 (1972).

62. VAIL, W.J., PAPAHADJOPOULOS, D., and M.A. MOSCARELLO : Interaction of a hydrophobic protein with liposomes : evidence for particles seen in freeze-fracture as being proteins. Biochimica et Biophys. Acta 345, 463-467 (1974).

63. VERNIER, R.L., PAPERMASTER, B.W. and R.A. GOOD : Aminonucleoside nephrosis. I. Electron microscopic study of the renal lesion in rats. J. Exp. Med. 109, 115-126 (1959).

64. WADE, J.B. and M.J. KARNOVSKY : The structure of zonula occludens. A single fibril model based on freeze-fracture. J. Cell Biol. 60, 168-180 (1974).

65. WEIBEL, E.R., KISTLER, G.S. and W.F. SCHERLE : Practical stereological methods for morphometric cytology. J. Cell Biol. 30, 23-38 (1966).

66. WEIBEL, E.R. : Stereological principles for morphometric cytology in electron microscopy. Int. Rev. Cytol. 26, 235-302 (1969).

67. YOUNG, D. and S.L. WISSIG : A histologic description of certain epithelial and vascular structures in the kidney of the normal rat. Am. J. Anat. 115, 43-70 (1964).

68 ZAMBONI, L. and C. DE MARTINO : A reevaluation of the mesangial cells of the renal glomerulus. Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat. Forsch. 86, 364-383 (1968).

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION 1

MATERIEL ET METHODES 2

- Préparation et fixation des animaux 2
- Microscopie électronique conventionnelle 4
- Cryodécapage 5
- Calculs statistiques 5
- Morphométrie 6

RESULTATS ET DISCUSSION 6

- Particules atypiques dans le tube collecteur *(31)* 6
- Faces de fracture dans la vessie de Crapaud *(50)* 8
- Différenciations membranaires dans l'anse de Henle *(32)* 9
- Jonctions serrées dans le néphron et le tube collecteur *(52)* 11
- Jonctions serrées du tube proximal pendant la diurèse *(33)* 15
- Jonctions dans les cellules mésangiales *(53)* 17
- Jonctions dans le rein foetal *(34)* 18
- Modifications structurales dans le glomérule néphrotique *(54)* 21

CONCLUSION 23

BIBLIOGRAPHIE 24